

**Der Einfluß des extracellulären Kalziums
auf die Saft-, Enzym- und Kalziumsekretion
des isoliert perfundierten Hundepankreas**

Klaus-Peter Stock

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor Prof. Dr. E. Buchborn

Der Einfluß des extracellulären Kalziums auf die
Saft-, Enzym- und Kalziumsekretion des isoliert
perfundierten Hundepankreas

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Klaus-Peter Stock
aus München

München 1976

Mit Genehmigung des FB Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. M.M. Forell

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4. 8. 1976



Herrn Prof. Dr. M. M. Forell darf ich vor allem danken für die Überlassung des Themas.

Für die stets wohlwollende und großzügige Unterstützung meiner Arbeit in Rat und Tat gilt Herrn Dr. Teufel mein herzlichster Dank.

Nicht zuletzt haben meine Kollegen, Herr Walter Mende und Herr Herbert Rohrmoser mit Unterstützung der Med.Tech.Assistentin Frä. Bickert durch ihre unentbehrliche Hilfe im Labor zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

MEINER MUTTER

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

Einleitung

Material und Methodik

Ergebnisse

- I. Die exkretorische Funktion des isoliert perfundierten Pankreas bei konstanten Kalziumkonzentrationen im Perfusat
- II. Abhängigkeit der basalen und stimulierten Ca^{2+} - und Enzymsekretion von Änderungen der Ca^{2+} -Konzentration im Perfusat.
 - I.
 1. Vergleich der Ca^{2+} -Konzentration im Blut des narkotisierten Hundes mit der Konzentration im Perfusat des isoliert durchströmten Organs.
 2. Verhalten der basalen Ca^{2+} - und Proteinsekretion im Pankreassaft des isoliert durchströmten Organs.
 - a. nach intraarterieller Injektion von Sekretin
 - b. bei kontinuierlicher intraarterieller Stimulierung mit Sekretin
 - c. Mittelwert und Standardabweichung der mittleren Ca^{2+} - und Proteinkonzentration unter hydrokinetischer Stimulierung
 - d. Korrelation der Kalzium- und Proteinkonzentration unter hydrokinetischer Stimulierung mit der Sekretionsrate des Pankreassaftes
 - e. Korrelation der basalen Ca^{2+} - und Proteinsekretion
 3. Gegenüberstellung der Ca^{2+} - und Proteinkonzentration in vivo und in vitro nach hydrokinetischer Stimulierung mit Sekretin.
 4. Verhalten der stimulierten Ca^{2+} - und Proteinsekretion im Pankreassaft des isoliert perfundierten Pankreas.
 - a. nach intraarterieller Injektion von CCK/PZ+Sekretin
 - b. bei kontinuierlicher Stimulierung durch CCK/PZ+Sekretin
 - c. durch CCK/PZ-Injektion bei hydrokinetischer Dauerstimulierung mit Sekretin

II. Abhängigkeit der basalen bzw. stimulierten Ca^{2+} - und Enzymsekretion von Änderungen der Ca^{2+} - Konzentration im Perfusat

1. Erhöhung der Kalziumkonzentrationen
2. Erniedrigung der Kalziumkonzentrationen
3. Effekt der Rekalzifizierung nach Perfusion mit kalziumverarmten Perfusat
4. Perfusat - und Saftosmolalität bei Durchströmung mit autologem Hundeblut bzw. kalziumverarmten Perfusionsmedium
5. Initiales "washing-out" von Enzymprotein und Ca^{2+} nach unterschiedlicher hydrokinetischer und ekbolischer Stimulierung

Diskussion

Zusammenfassung

Der Einfluß des extracellulären Kalziums auf die
Saft-,Enzym- und Kalziumsekretion des isoliert
perfundierten Hundepankreas

Der Einfluß extracellulärer Kalziumkonzentrationsänderungen auf die sekretorische Funktion des Pankreas gewann in letzter Zeit immer mehr an Beachtung.

Cope et al. (8) beschrieben als erste den Zusammenhang von Hyperkalzämie und Pankreatitis beim primären Hyperparathyreoidismus. Die Pankreatitis kommt bei dieser Erkrankung nach übereinstimmenden Berichten von Mixter, Turchi, Creuzfeldt und Schmidt (19,33,9,27) in 7 % der Fälle vor. Als Ursache werden Verkalkungen der Pankreasgänge und des Parenchyms, eine Aktivierung von Trypsinogen zu Trypsin durch Kalzium sowie ein direkter toxischer Einfluß der Hyperkalzämie auf die Pankreaszellen diskutiert.

Goebell et al (12,13) beobachteten beim primären HPT und der gleichzeitig vorliegenden Hyperkalzämie, daß die mit CCK/PZ stimulierte Enzymsekretion in etwa der Hälfte der Fälle vermindert war. Eine Erhöhung der Kalziumsekretion fand er bei Hyperkalzämie und normaler Pankreasfunktion.

Nach Untersuchungen von Goebell et al. (12,13) und Hotz et al. (16) führt die akute, experimentell ausgelöste Hyperkalzämie am Menschen und am Hund zu einem Anstieg der basalen und der mit CCK/PZ und Sekretin stimulierten Enzym- und Kalziumsekretion des Pankreas.

Die durch EDTA am Menschen erzeugte Hypokalzämie führt nach Hotz et al. (16) zu einer Verringerung des basalen und sekretinstimulierten Saftvolumens. Unter den gleichen Bedingungen wurde auch eine Abnahme der Enzym- und Kalziumsekretion beobachtet.

Die gleichen Ergebnisse zeigten tierexperimentelle Versuche:

So fanden Hokin, Case, Argent, Robberecht und Heisler (15,5,6,1,2,23) an verschiedenen in-vitro Modellen im kalziumfreien Milieu eine Reduktion der stimulierten Enzymsekretion. Nach längerer Perfusionsdauer kam es nach Beobachtung von Argent und Schulz (1, 2,29) auch zu einer Verminderung der Volumensekretion; dieser Effekt konnte nach Rekalzifizierung des Perfusats vollkommen aufgehoben werden. Die Hemmung der stimulierten Enzymsekretion war nur teilweise reversibel.

Nach Argent besteht eine Korrelation der Ca^{2+} -Konzentration von Perfusat- und Pankreassaft. Die Konzentration des Saft-Kalziums steigt parallel zur Erhöhung des Serum-Kalziums; kalzium-freies Perfusat führte ebenfalls zur Reduktion der Kalzium-Exkretion im Pankreassaft (1,2).

Argent et al. (1,2) Douglas und Poisener (11), Robberecht und Christophe (23) und Schulz (29) zeigten an in-vitro Präparaten des Katzen- und Rattenpankreas bzw. an der Speicheldrüse der Katze, daß hohe extracelluläre Kalziumkonzentrationen die durch CCK/PZ und Sekretin stimulierte Enzymsekretion potenzieren.

Case et al. (5,6) beobachtete keinen signifikanten stimulierenden oder potenzierenden Effekt extracellulärer Ca^{2+} - Konzentrationen auf die basale oder stimulierte Enzymsekretion.

Die Bedeutung des extracellulären Kalziums für endokrine und exokrine Sekretionsprozesse, die Freisetzung von neutralen Transmittersubstanzen und die kontraktile Systeme liegt nach derzeitigen Vorstellungen in der Koppelung der natürlichen Stimuli mit der target-Zelle und ihren spezifischen Sekretionsmechanismen.

Bei der Erklärung der Sekretionsmechanismen stehen sich zwei Theorien gegenüber:

Nach der ersten Theorie, die von Case, Douglas, Malaisse und Rubin (4,7,10,18,24) vertreten wird, führt der hormonelle bzw. nervale Reiz zu einer Permeabilitätsänderung der Plasmamembran und zu einer Erhöhung des cytoplasmatischen c-AMP. Letzteres bedingt eine endogene Freisetzung von Kalzium aus ultrastrukturellen Depots und führt zu einer Ca^{2+} -Anreicherung im Cytosol. Diese Ca^{2+} -Konzentrationserhöhung leitet die weiteren sekretorischen Prozesse ein.

An der Plasmamembran wird ein Ca^{2+} -Gradient von 10^{2-5} (extracelluläre Ca^{2+} -Konzentration 1-2 mM, cytoplasm. Ca^{2+} -Konzentration ($<1\mu\text{M}$) durch aktive energieabhängige Zelleistung aufrechterhalten.

Rasmussen (22) fand neben der erwähnten Kalziumpumpe an der Plasmamembran auch einen aktiven Ca^{2+} -Transport an den Membranen des endoplasmatischen Retikulums, der Mikrosomen und der Mitochondrien.

Nach der zweiten Theorie kommt es durch die Interaktion des natürlichen Stimulus und der plasmamembranösen Rezeptoren über eine Permeabilitätsänderung zu einem gesteigerten Ca^{2+} -Influx in die Zelle mit konsekutiver Induktion der intrazellulären sekretorischen Prozesse. Diese Auffassung wird vor allem von Schulz (28,29) vertreten. Beim Menschen sahen Goebell et al. (12) nach alleiniger Sekretinstimulierung eine Abnahme der Kalziumkonzentration im Pankreassaft im Vergleich zur Basalsekretion, wobei jedoch pro mg Enzymprotein eine 2- 3-fache Kalziummenge (0,7 μEq) als nach ekbolischem Reiz gefunden wurde.

Nach CCK/PZ-Reiz hingegen war ein Anstieg sowohl der Kalziummenge als auch der Kalziumkonzentration, positiv korreliert mit dem ebenfalls erhöhten Kalziumefflux zu erkennen. Dabei werden nach diesem Autor 0,2 - 0,3 μEq Ca^{2+} pro mg Protein sezerniert.

Aus dem Unterschied im quantitativen Verhältnis von Kalzium und Protein unter hydrokinetischer und ekbolischer Stimulierung wurde von Goebell (12) neben einer proteingebundenen eine zweite enzymdissoziierte Ca^{2+} -Faktion postuliert.

Der Schnittpunkt der Regressionsgeraden, die nach Argent die Kalzium- und Eiweißkonzentration korreliert, ergab bei 0 mg Protein ungefähr 0,5 $\mu\text{Eq}/\text{ml}$ Ca^{2+} , woraus Argent (1,2) und Case (5,6) ebenfalls auf eine proteinunabhängige Kalziumfraktion schlossen.

Dem entgegen fand Zimmermann und Dreiling (36, 37) eine völlige Unabhängigkeit der Ca^{2+} - Sekretion von der Höhe der Sekretinstimulierung bzw. der Volumensekretion.

Daraus ergaben sich für die Experimente folgende zwei Untersuchungskomplexe:

1. Der Nachweis einer enzymunabhängigen Kalziumfraktion im Pankreassaft.
2. Der Einfluß von Konzentrationsänderungen des plasmatischen Kalziums auf die basale und stimulierte Saft-, Elektrolyt- und Enzymsekretion.

Die Experimente wurden in einer modifizierten Methode der von Hermon-Taylor (14) beschriebenen Präparation ausgeführt. Durch die völlige Isolierung des Pankreas vom Duodenum lassen sich die in vivo möglichen Einflüsse kalziuminduzierter cholinerg oder hormoneller Interferenzen ausschliessen.

Methodik :

Die Untersuchungen erfolgten an 50 männlichen und weiblichen Bastardhunden, die ein durchschnittliches Körpergewicht von 20 - 30 kg hatten. Die etwa 2 1/2 Stunden dauernde Operation wurde nach 12-stündiger Nahrungskarenz in intravenöser Pentobarbitalnarkose (20 - 30 mg/kg Körpergewicht, Nembutal^R) durchgeführt, wobei während der Dauer der OP 100 Vol% der Raumluft via Trechealtubus zugemischt wurde.

Operationstechnik:

Nach Präparation der a. und v. femoralis in der Inguinalregion erfolgt ihre Sondierung durch Polyäthylenkanülen. Aus der a.femoralis wird die für die Perfusion

notwendige Blutmenge (300 - 400 ml) entnommen (0,5 ml Heparin + 1,5 mg Gentamycin pro 100 ml Nativblut) und durch eine äquivalente Menge Ringerlösung in die v.femoralis ausgeglichen. Während der Operation wird fortlaufend Ringerlösung und 1,4 %ige Bikarbonatlösung substituiert.

Die Laparotomie erfolgt über einen Medianschnitt vom Xiphoid bis zur Symphyse. Die m.recti abdominis werden dicht an ihrem costalen Ansatz durchtrennt.

Das vordere Blatt des omentum majus wird sorgfältig entlang der großen Krümmung unterbunden und durchtrennt.

Nach Unterbindung sämtlicher lienaler Gefäße erfolgt die Splenektomie. Daran schließt sich die Unterbindung der a.gastrica sinistra und der Gefäße der großen und kleinen Krümmung an. Nach Durchtrennung von Pylorus und Kardia wird der Magen entfernt.

Der ductus pancreaticus wird nun in seiner intramuralen Verlaufsstrecke freipräpariert und kanüliert (Polyäthylenkatheter). Anschliessend erfolgt die Skelettierung des gesamten eng mit dem Duodenum verbundenen Pankreaskopfes durch sorgfältigste und schonendste Unterbindung sämtlicher vaskulärer Verbindungen einschließlich des ductus choledochus und der accessorischen Pankreasgänge. Diese Entfernung des Duodenums dient dem Ausschluß möglicher endogener Hormonfreisetzung aus der Duodenalschleimhaut sowie der Elimination nervaler Mechanismen der engen vegetativen Verflechtungen von Duodenum und Pankreas.

Es folgt die Freilegung der a.mesenterica sup. distal des Abganges der a.pancreaticoduodenalis inf. und der v.mesenterica sup. distal der Einmündung der v.pancreaticoduodenalis sup. Die übrigen mesenterialen Gefäßaufzweigungen werden ligiert.

Vor Sondierung der v.mesenterica sup. wird der Organkreislauf über die v.femoralis mit 5000 E Liquemin^R (La Roche) antikoaguliert. Nach Unterbindung der Leberhilusgefäße fließt das venöse Blut retrograd über die v.mesenterica sup. in das Perfusionssystem und wird dort oxygeniert. (Oberflächenoxygenator 95 Vol% O₂ ; 5 Vol% CO₂). Nun werden die a. mesenterica sup. distal der a. pancreaticoduodenalis inf. und die a.lienalis distal des Abganges der zum Pankreasschwanz führenden Gefäße sondiert und mit sauerstoffgesättigtem Blut aus dem Perfusionssystem durchströmt.

Es folgt die Durchtrennung der a. mesenterica sup. und der a. coeliaca an ihrem aortalem Abgang (Abb. 1).

Auf diese Weise ist es möglich, den Perfusionskreislauf ohne Ischämiephase zu schliessen.

Nach dem Durchtrennen der letzten mesenterialen und peritonealen Verbindungen des Organs und seiner Loslösung vom Leberhilus wird das Pankreas herausgenommen und in die Perfusionskammer gebracht.

Perfusionsystem :

Das gesamte Perfusionssystem befindet sich in einer thermoregulierten, auf 37° C eingestellten , geschlossenen PVC-Kammer (Abb. 2). Das isolierte Organ wird entweder mit unverändertem autologem oder hyper- bzw. hypokalzämischem Perfusat (siehe später) über einen geschlossenen rezirkulierenden Kreislauf durchströmt.



Abb. 1 : Schematisierter Gefäßsitus (Hund) von dorsal

- 1 Truncus coeliacus
- 2 A.mesenterica sup.
- 2 A.lienalis
- 4 A.gastrica sin.
- 5 A.gastroepiploica dextra
- 6 A.gastroduodenalis
- 7 A.pankreaticoduodenalis sup.
- 8 A.gastrica dextra
- 9 A.hepatica propria, von der A. hepatica comm.abgehend
- 10 A.pankreaticoduodenalis inf.
- 11 A. ileocecales
- 12 V.mesenterica sup.
- 13 V.lienalis
- 14 V.gastroduodenalis
- 15 V.portae
- 16 V.pancreaticoduodenalis inf.
- 17 Auffanggefäße für Pankreassaft (kalibrierter Meßzylinder)

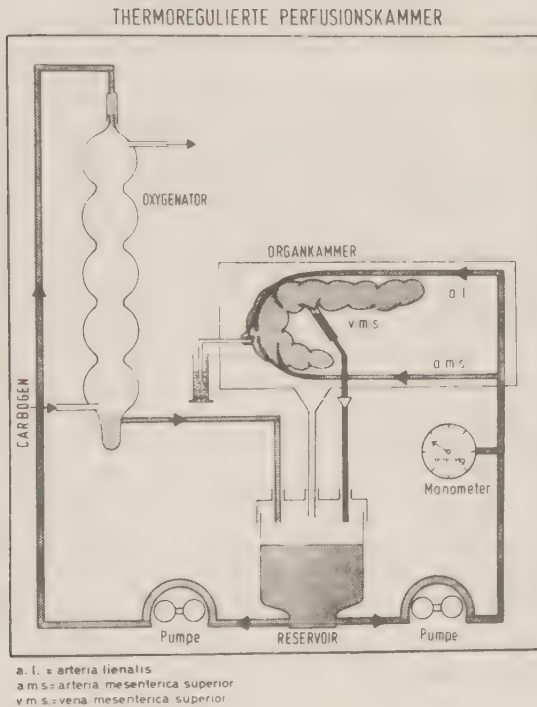


Abb. 2 : Schematisierte Darstellung des extrakorporalen Perfusionskreislaufts.

Dieser unterteilt sich in einen Organ- und einen Oxygenierungskreislauf. Sie sind unabhängig voneinander regulierbar und münden in ein gemeinsames Vorratsgefäß.

Der Organkreislauf , in den ein geeichtes Manometer und ein Filter zur Verhinderung arterieller Embolien eingeschaltet ist, durchströmt das Pankreas. Durch eine stufenlos regulierbare Rollerpumpe (FA Deuster München) wird das Blut aus dem Vorratsgefäß angesaugt, fließt durch das Organ mit einem Minutenvolumen von etwa 20 ml und einem arteriellen Druck von 50 - 80 mm Hg und gelangt retrograd über die V.mesenterica superior in das Vorratsgefäß zurück.

Im Oxygenierungskreislauf kommt das Blut via Schlauchpumpe zur Oberflächenoxygenator, der im Gegenstromprinzip mit Carbogen (95 Vol.% CO_2 + 5 % O_2) durchströmt wird.

Durch einen Magnetrührer werden in sämtlichen Vorratsgefäßen das sauerstoffgesättigte Blut mit dem venösen Rückfluß durchmischt. Da das Minutenvolumen des Oxygenierungskreislaufs das Doppelte des Organkreislaufs (0,5 ml/g Organgewicht) beträgt, wird im Mischblut des Vorratsgefäßes eine 98 %ige Sauerstoffsättigung erreicht.

Das isolierte Organ liegt vor Austrocknung geschützt in einer eigenen, geschlossenen PVC-Kammer. Diese steht ebenfalls durch einen Schlauch mit dem Vorratsgefäß in Verbindung, wodurch das aus undichten Gefäßen abtropfende Blut wieder in den Organkreislauf zurückgelangt.

Der ausgeschiedene Pankreassaft wird über den sondierten ductus pankreaticus nach außen geleitet und in 5 ml Meßzylindern (10 Teilstriche) aufgefangen, die je nach Versuchsmuster in 1 - 5 minütigen Abständen

gewechselt werden. Alle in System verwandten Schlauchverbindungen bestehen aus Silikon (FA Braun-Melsungen).

Versuchsanordnungen :

Entsprechend den Fragestellungen ergeben sich zwei unterschiedliche Versuchsanordnungen :

Im ersten Teil der Versuchsreihe wird das Organ mit 400 ml präoperativ entnommenem heparinisierten und sauerstoffgesättigten Blut durchströmt. Nach einer Vorperiode von 30 Minuten, die der Einstellung konstanter Versuchsbedingungen nach Erreichen der endgültigen Druck- und Temperaturwerte dient, beginnt der eigentliche Versuch.

In der zweiten Versuchsreihe ist diesem System ein vollständig getrenntes zweites Perfusionssystem parallelgeschaltet, welche 200 ml kalziumverarmtes (siehe unten) Blut enthält.

Nach Beendigung der Perfusion mit normalem kalziumhaltigen Blut wird das Organ in dieses 2. System nach vorheriger 10-minütiger Durchströmung mit physiologischer Kochsalzlösung eingeschaltet.

Das " kalziumarme " Perfusat wird aus autologem Blut wie folgt hergestellt:

Das Blut wird mit 3000 U/min zentrifugiert und der Plasmaüberstand verworfen. Es folgt eine 3-malige Waschung der Erythrozyten mit kalziumfreiem Krebs-Henseleit-Puffer:

(Krebs-Henseleit-Puffer:

Lösung A: 7,313 g NaCl; 350 mg KCl; 246,5 mg $MgSO_4$ ad 1000 ml

Lösung B: 2,184 g $NaHCO_3$; 163,3 KH_2PO_4

Puffer = Lösung A + B zu gleichen Teilen)

Aus den gewaschenen Erythrozyten (etwa 40 vol %) und dem eben erwähnten kalziumfreien Puffer (60 Vol %) wird unter Zusatz von 2 g hochgereinigtem kalziumfreien Rinderalbumin (Firma Schering) ein dem Kontrollperfusat (unver-

Ändertes autologes Blut) isotones Perfusionsmedium angefertigt.

Um das während der Perfusionsdauer freiwerdende Kalzium zu binden, wurde außerdem noch $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ (2mM) zugesetzt, das nach stöchiometrischer Berechnung das freiwerdende Kalzium vollständig binden müßte.

Zur Verhinderung einer eventuellen Bakteriämie wird Gentamycin (15 $\mu\text{g/ml}$) zugesetzt.

Der Bikarbonat - und Glucosespiegel im Perfusat wird durch kontinuierliche intraarterielle Zufuhr (Perfusor Braun-Melsungen) von Glukose (etwa 240 mg/H) und NaHCO_3 (je nach Meßwert - etwa 3- 4 mEq/h) konstant gehalten.

Sekretin + CCK/PZ (GIH Unit, Karolinska Institutet, Stockholm) gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, werden je nach Fragestellung als Infusion (Perfusor Braun-Melsungen) oder als Einzelinjektion verabfolgt. Die Anhebung des Serum-Kalziumspiegels erfolgt durch stoßweise Injektion bzw. kontinuierliche Infusion von CaCl_2 (200 mM) oder Ca-Glukonat (200 mM) in das Blutreservoir.

Die Verluste, die dem jeweiligen System durch Verdunstung am Oxygenator, durch Pankreassaftproduktion und durch Blutentnahme entstehen, werden , der jeweiligen Versuchsanordnung entsprechend mit Vollelektolytlösung oder kalziumfreiem Krebs-Henseleit-Puffer ausgeglichen.

Bestimmungsmethoden :

Während der gesamten Perfusionsdauer werden im Perfusat die Blutgase (PO_2 ; PCO_2), pH und die Plasma- HCO_3 -Konzentration gemessen und durch entsprechende Substitution auf gleichem Niveau gehalten.

Die Bestimmung erfolgte nach der Mikromethode von Astrup (3) (BMS_2 - PHM_{71} BEU_1 - FA Hillerkus Krefeld) und dem Nomogramm von Sigaard-Andersen (31).

Die Bestimmung der Sauerstoffsättigung und die Kontrolle des pH-Wertes im Krebs-Henseleit-Puffer erfolgte über eine P_{O_2} -Elektrode bzw. mit dem PHM_{71} der FA Hillerkus Krefeld.

Ferner werden im Perfusat die Kalziumkonzentration, die Osmolalität (Osmometer FA Knauer), die Glukosekonzentration (enzymatisch), die Lipase (Weber (34)), der Hämoglobingehalt und der Hämatokritwert bestimmt.

Im Pankreassaft werden folgende Werte gemessen:

Die HCO_3 - Konzentration (Scribner und Caillonette), (30), das Gesamteiweiß (Biuret), die Osmolalität (Osmometer FA Knauer) und die Kalziumkonzentration.

Die Konzentration des Kalziums im Serum und im Pankreassaft wird mit dem Atom-Absorptions-Spektrophotometer (FA Evans elektroselenium LTD Halstead Essex-England) bestimmt, wobei allerdings bei der Messung die Gesamt-Kalziummenge (ionisierter und protein-bzw. EDTA-gebundener Anteil) erfasst wird.

R e s u l t a t e :

I. Die exkretorische Funktion des isoliert perfundierten Pankreas bei konstanten Ca^{2+} - Konzentrationen im Perfusat

1. Vergleich der Ca^{2+} -Konzentration im Blut des narkotisierten Hundes mit der Konzentration im Perfusat des isoliert durchströmten Organs.

Die plasmatische Kalziumkonzentration in-vivo liegt mit $4,02 \pm 0,44 \mu\text{Eq/L}$ in der Größenordnung der Meßwerte aus dem Perfusat ($4,07 \pm 0,54 \mu\text{Eq/l}$).

Die Perfusatkonzentration von Kalzium bleibt also während der Durchströmung des Organs trotz Hämolyse unverändert.

2. Verhalten der basalen Ca^{2+} - und Proteinkonzentration im Pankreassaft des isoliert durchströmten Organs nach Sekretin.

Abb. 3 zeigt die Enzym- und Kalziumkonzentration nach einer intraarteriellen Stoßinjektion von 2 clin. U Sekretin. Nach einem initialen "washing out" von Protein und Kalzium fallen beide Parameter rasch auf eine basale Konzentration ab, die trotz kontinuierlicher Abnahme der Saftsekretionsrate über mehrere 5-Minuten-Fractionen aufrechterhalten werden kann. Ein weiterer Rückgang der Sekretionsrate hat einen Anstieg der Protein- und Kalziumkonzentration zur Folge.

Aus dem oberen Teil der Abbildung ist zu ersehen, daß in allen Phasen dieses hydrokinetischen Einzelreizes das quantitative Verhältnis von Kalzium zu Protein, ausgedrückt als Quotient μEq Kalzium pro mg Protein annähernd konstant bleibt.

Unter konstanter Stimulierung mit 6 clin. U Sekretin/h zeigen die basalen Kalzium- und Proteinkonzentrationen über mehrere Stunden keine Änderung.

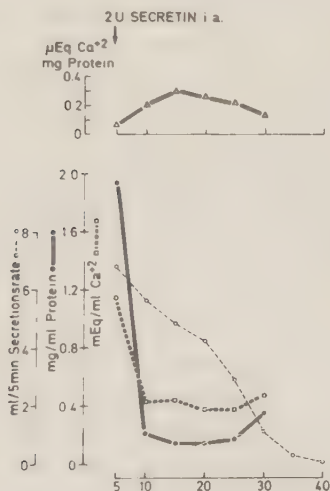


Abb. 3: Kinetik der basalen Enzym- und Kalziumsekretion nach intraarterieller Verabreichung von 2 clin. U Sekretin. -----gibt den Verlauf der Volumensekretion ($\text{ml}/5 \text{ min}$) wieder.

Im oberen Teil der Abbildung ist das Verhältnis Kalzium zu Protein, ausgedrückt als Quotient $\mu\text{Eq Ca}^{2+}$ dargestellt.

$\mu\text{Eq Ca}^{2+}$
mg Prot

Der Kalzium /Protein-Quotient ist unabhängig von der jeweiligen Volumensekretion bzw. der Sekretindosis.

Nebenstehende Tabelle 1 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der mittleren Kalzium- und Proteinkonzentrationen bzw. des Kalzium-Protein-Quotienten aus 17 Testperioden (a 30 min = 6 Sammel-fractionen von 14 Experimenten) mit ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung.

Die basale Enzymsekretion liegt bei $1,2 \pm 0,56$ mg/ml, die mittlere Kalziumkonzentration beträgt $0,34 \pm 0,15$ μ Eq/ml. Der Kalzium-Protein-Quotient (Q) liegt im sekretinstimulierten Pankreassaft bei $0,34 \pm 0,16$ μ Eq/mg.

Die nächste Abb. 4 korreliert die Kalzium- bzw. Proteinkonzentration mit der jeweiligen Volumensekretionsrate. Von 12 Experimenten mit intraarteriellen Einzelinjektionen oder kontinuierlicher Infusion von Sekretin wurden 131 bzw. 109 Einzelbestimmungen der Kalzium- und Proteinkonzentration zu ihrer jeweiligen Sekretionsrate in Beziehung gesetzt.

Die Korrelationskoeffizienten zeigen sowohl für die Protein- als auch für die Kalziumkonzentrationen eine hochsignifikante negative Korrelation zur Saftsekretion, d.h. die Konzentration beider Parameter nimmt mit zunehmender Sekretionsrate in gleicher Weise ab. Die beiden ermittelten Regressionsgeraden sind nach dem Test auf Gleichheit der Steigung (L.Sachs (25)) mit einer Varianz von 1 % hochsignifikant.

Das quantitative Verhältnis von Ca^{2+} zu Protein bleibt über den ganzen Bereich der Sekretionsraten konstant.

PERFUSATE :	
CALCIUM CONC.	NORMAL
SECRETIN STIMULATION	
PANCREATIC JUICE :	$\bar{x} \pm SD (n = 17)$
PROTEIN mg/ml	1.2 $\pm$ 0.56
CALCIUM $\mu\text{Eq/ml}$	0.34 $\pm$ 0.16
$\frac{\text{CALCIUM } (\mu\text{Eq})}{\text{PROTEIN } (\text{mg})}$	0.35 $\pm$ 0.17

Tab.1: Mittelwert und Standardabweichung der mittleren Kalzium- und Proteinkonzentrationen unter ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung (6- 18 clin U/h). Den Ergebnissen liegen 17 Testperioden (a 30 min = 6 Sammelfraktionen) aus 14 Experimenten zu Grunde.

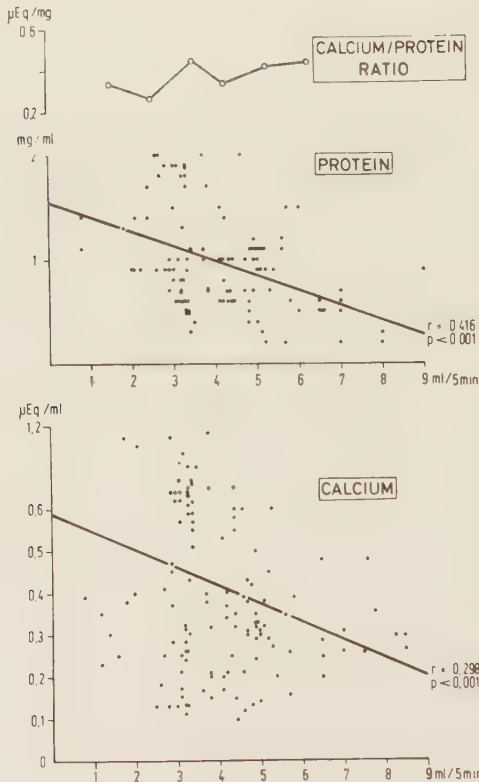


Abb.4: Korrelation der Kalzium-bzw. Proteinkonzentration mit der Volumensekretion unter ausschließlich hydrokinetischer Stimulierung.

Aus 12 Versuchen mit intraarterieller Einzelinjektion (1 - 2 clin.U) oder kontinuierlicher Infusion (6 - 18 clin U/h) von Sekretin werden 131 bzw. 109 Einzelbestimmungen der Kalzium- und Proteinkonzentration zu ihrer jeweiligen Sekretionsrate in Beziehung gesetzt.

Im obersten Teil der Abb.ist das Verhältnis von Kalzium zu Protein,ausgedrückt als Quotient $\mu\text{Eq}/5 \text{ min Ca}^{2+}$ zu $\text{mg}/5 \text{ min Protein}$ dargestellt.

Für die Berechnung wurden die Mittelwerte sämtlicher Ca^{2+} - bzw. Proteinkonzentrationen innerhalb eines Abschnittes der Abszisse von 1 ml/5 min zugrundegelegt und zueinander in Beziehung gesetzt.

Die Parallelität der Regressionsgeraden läßt auf eine Kohärenz der Kalzium- und Proteinsekretion auch unter ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung schliessen. (Bisher nur für ekbolische Stimulierung bewiesen).

Die hochsignifikante Korrelation der Protein- und Kalziumsekretion unter Sekretin (Abb. 5) weist auf einen gekoppelten Sekretionsprozeß hin, der, wie Abb. 4 zeigt, von der Volumensekretion unabhängig ist. Dieses Ergebnis spricht gegen die Existenz einer quantitativ bedeutenden, protein-dissoziierten Kalziumfraktion im Pankreassaft.

3. Gegenüberstellung der Ca^{2+} -und Proteinkonzentration in vivo und in vitro nach hydrokinetischer Stimulierung mit Sekretin.

Die Gegenüberstellung (Abb. 6) der sekretinstimulierten Kalzium- und Proteinkonzentration im Pankreassaft vom gleichen Organ

- a. unmittelbar nach Laparotomie in situ und
 - b. nach operativer Organentnahme und isolierter Perfusion
- zeigt keine signifikanten Unterschiede zwischen den gemessenen Konzentrationen in vivo und in vitro. Lediglich die initiale Proteinkonzentration (" washing out ") erreicht in vitro einen höheren Wert.

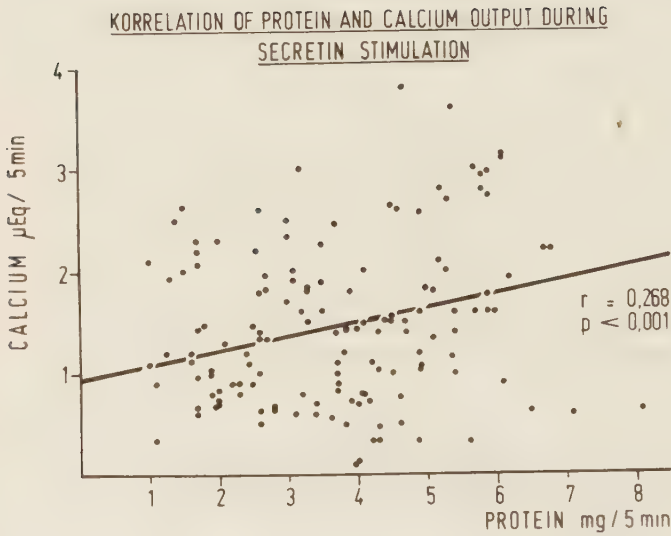


Abb. 5: Korrelation der Protein - ($\text{mg}/5\text{ min}$) und Kalziumsekretion ($\mu\text{Eq}/5\text{ min}$) nach intraarterieller hydrokinetischer Einzelinjektion (1 - 2 clin U) oder kontinuierlicher Infusion (6 - 18 clin U/h) von Sekretin.

Der Zeichnung liegen 141 Einzelwerte aus 12 Experimenten zugrunde.

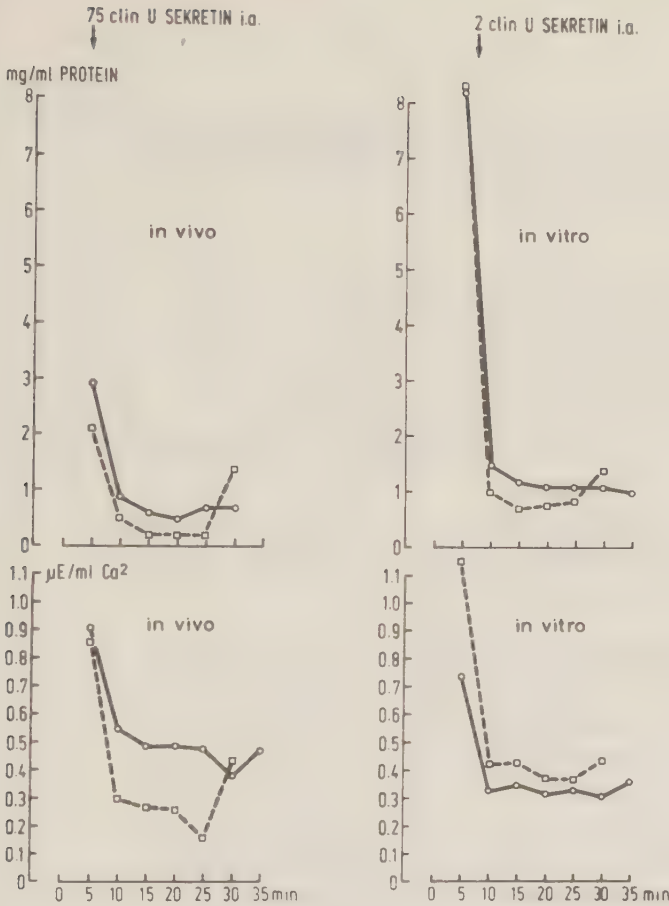


Abb. 6: Gegenüberstellung (des Verhaltens) der Ca^{2+} - ($\mu\text{Eq/ml}$) und Proteinkonzentration (mg/ml) zweier entsprechender Versuche unter hydrokinetischer Stimulierung nach Laparotomie in situ (Abb. li. Teil) und nach Durchströmung mit Perfusat (Abb. re. Teil). Die Stimulierung erfolgte in vivo mit 55 bzw. 75 clin.U Sekretin und im Perfusionssystem mit 2 clin.U Sekretin, jeweils intraarteriell.

4. Verhalten der Ca^{2+} - und Proteinkonzentration im Pankreassaft des isoliert perfundierten Pankreas nach Verabreichung von CCK/PZ.

Aus den folgenden Experimenten ist der Einfluß ekbolischer Reize auf das Sekretionsverhalten der Enzymproteine, des damit assoziierten Kalziums bzw. ihres quantitativen Verhältnisses zueinander ($\mu\text{Eq Ca}^{2+}$ / mg Protein) unter Sekretin zu entnehmen.

Die ekbolische Stimulierung erfolgte in verschiedener Weise:

- a) als intraarterieller Einzelreiz von CCK/PZ (1 Ivy dog unit=1 IDU) in Verbindung mit einer intraarteriellen Injektion von Sekretin (1/2 clin. U)
- b) als kontinuierliche Infusion mit 2,5 IDU/h CCK/PZ in Verbindung mit 6 clin. U/h Sekretin oder
- c) als CCK/PZ- Einzelinjektion bei gleichzeitiger Infusion von 6 clin. U/h Sekretin.

Abb. 7 zeigt das Sekretionsverhalten von Kalzium und Protein bei Verabfolgung eines intraarteriellen ekbolischen Einzelreizes mit 1 IDU CCK/PZ und einer halben clin.U Sekretin.

Die Enzym- und Kalziumsekretion zeigt - wie bei ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung - in den beiden Meßwerten ein korrespondierendes Sekretionsverhalten.

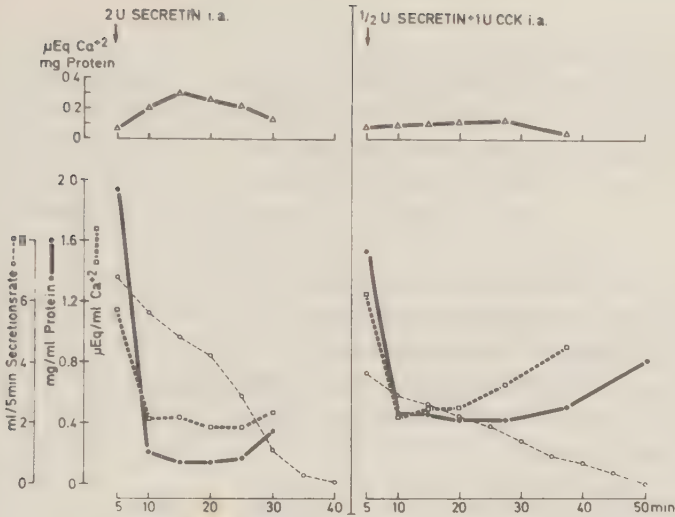


Abb. 7: Gegenüberstellung des Sekretionsverhaltens der Kalzium- ($\mu\text{Eq}/\text{ml}$) und Protein-Konzentrationen (mg/ml) bei Verabfolgung eines ausschließlich hydrokinetischen Einzelreizes mit 2 clin. U Sekretin intraarteriell (Abb. 7 li. Teil) und eines ekbolischen Einzelreizes mit 1 IDU CCK/PZ und einer 1/2 clin.U Sekretin (Abb. 7 re. Teil).
..... zeigt das Verhalten der Saftsekretion.
Im oberen Teil ist jeweils das quantitative Verhältnis der Kalzium- und Proteinsekretion ausgedrückt als Quotient $\mu\text{Eq}/5 \text{ min Ca}^{2+}$ zu $\text{mg}/5 \text{ min Protein}$ dargestellt.

Nach dem initialen Abfall der Enzymsekretion

- a) nach Stimulierung durch CCK/PZ und
- b) nach "washing out" durch Sekretin kommt es mit allmählicher Abnahme der Saftsekretionsrate zu einem langsamen Anstieg der Enzym- und Kalziumkonzentration.

Die Gesamtmenge beider Meßgrößen bleibt jedoch konstant bzw. nimmt geringgradig ab. Dieses Phänomen wird, wie in Abb. 4 dargestellt, durch die negative Korrelation von Kalzium und Protein zu ihrer jeweilig entsprechenden Saftsekretionsrate erklärt. Das quantitative Verhältnis der Kalzium- und Proteinsekretion ausgedrückt als Quotient $\mu\text{Eq}/5 \text{ min Kalzium zu mg}/5 \text{ min Protein}$ ändert sich in keiner Phase des Sekretionsverlaufs (Abb. 7 re.oben) und liegt in der Größenordnung ausschließlich hydrokinetischer Stimulierung (Abb. 7 li.Teil oben).

Im Folgenden wird der Mittelwert der Kalzium- und Proteinkonzentrationen bzw. des Ca/Prot.-Quotienten aus den Durchschnittswerten von 26 30-minütigen Testperioden (a 6 Sammel-fractionen) von 6 Experimenten mit ekbo-lischer (2,5 IDU CCK/PZ + 6 clin. U/h Sekretin) Stimulierung errechnet (Tab. 2 re.Teil) und mit den gleicherweise ermittelten Parametern aus 17 Testperioden von 6 Experimenten mit ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung (Sn) verglichen (Tab. 2 li.Teil).

Hieraus ergibt sich eine signifikant erhöhte Kalzium- und Proteinkonzentration unter CCK/PZ. Das quantitative Verhältnis von Ca^{2+} zu Protein bleibt jedoch unter beiden Stimulationsbedingungen unverändert. Der statistische Vergleich der Mittelwerte beider Kollektive durch den Student-T-Test zeigt keine signifikante Differenz. Es läßt sich also daraus kein Hinweis auf eine enzymunabhängige Kalziumfraktion im sekretinstimulierten Pankreassaft ableiten.

PERFUSATE :

STIMULATION

SECRETIN

SECRETIN + CCK

PANCREATIC JUICE :

$\bar{x} \pm SD$ n = 17

$\bar{x} \pm SD$ n = 26

PROTEIN mg/ml	1.21 $\pm$ 0.56	p < 0.0005	3.67 $\pm$ 2.1
CALCIUM μ Eq/ml	0.34 $\pm$ 0.15	p < 0.0005	0.82 $\pm$ 0.38
CALCIUM (μ Eq) PROTEIN (mg)	0.35 $\pm$ 0.16	p < 0.2	0.29 $\pm$ 0.2

Tab. 2: Gegenüberstellung der Mittelwerte der Kalzium- und Proteinkonzentrationen bzw. des Ca/Prot-Quotienten unter ekbolischer (2,5 IDU CCK/PZ + 6 clin. U/h Sekretin) und ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung (6- 18 clin. U/h Sekretin). Es werden aus 6 Versuchen mit ekbolischer Reizung die Durchschnittswerte von 26 30-minütigen Testperioden (a 6 Sammelfaktionen) den auf die gleiche Weise ermittelten Parametern aus 17 Testperioden (ebenfalls 6 Experimente mit hydrokinetischer Stimulierung gegenübergestellt.

II. Abhängigkeit der basalen und stimulierten Ca^{2+} - und Enzymsekretion von Änderungen der Ca^{2+} - Konzentration im Perfusat

1. Erhöhung der Kalziumkonzentration

In den folgenden Versuchen wurde die Wirkung hoher und niedriger, jedoch noch im physiologischen Bereich liegender Serum-Kalziumwerte untersucht.

Als erstes stellt Abb. 8 dar, welchen Einfluß hohe plasmatische Kalziumkonzentrationen auf die ausschließlich mit Sekretin-stimulierte Protein - und Kalziumsekretion ausüben. Durch die schrittweise Erhöhung der Kalziumkonzentration im Perfusionsmedium von durchschnittlich 2 - 4 auf 6- 10 mEq/l im Mittel konnte weder ein signifikanter Effekt auf die basale Enzymsekretion noch eine Wirkung auf den Kalziumefflux erzielt werden. Eine Änderung der Volumensekretion war ebenfalls nicht zu erkennen.

Tab. 3 stellt die mittleren Kalzium- und Proteinkonzentrationen von jeweils 12 Sammelperioden à 30 min (= 6 Einzelfraktionen über jeweils 5 min) bei normaler Kalziumkonzentration (4 - 5 mval/l) den Mittelwerten von 19 vergleichbaren Testperioden aus 5 Experimenten mit erhöhtem Perfusatkalzium (4 - 10 mEq/l) gegenüber, entsprechend der graphischen Darstellung der gesamten Kalzium- und Proteinsekretion / 30 min in Abb. 8.

Hieraus resultiert keine signifikante Differenz in der durchschnittlichen Kalzium- und Proteinkonzentration unter normo- bzw.hyperkalzämischen Bedingungen. Auch die Relation von Kalzium zu Protein bleibt unter beiden Versuchsbedingungen konstant.

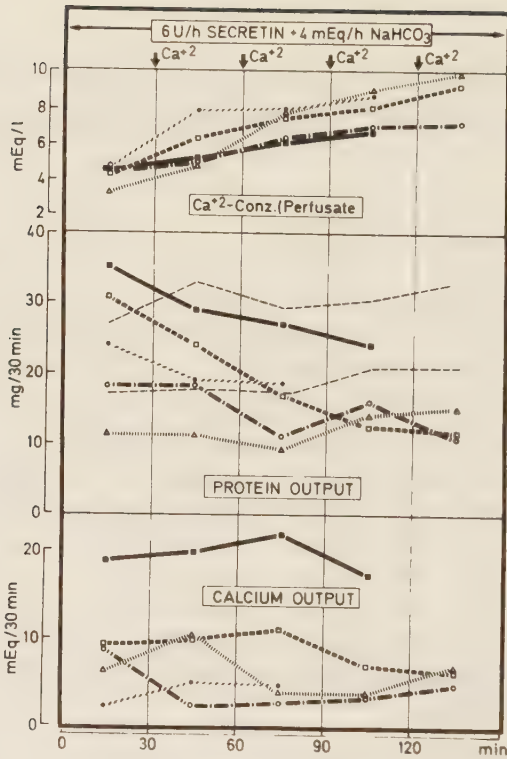


Abb. 8:

Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration im Perfusate durch Injektion (↓) von je 2 ml einer 200 mM CaCl_2 -Lösung in das Reservoir (400 ml) bei kontinuierlicher Stimulierung mit Sekretin. Der Periode 0 - 30' geht eine 30-minütige Vorperiode vor Beginn der Stimulierung und eine 60-minütige Periode bis zum Erreichen eines steady state der Enzym-, Saft- und Ca^{2+} -Sekretion nach Beginn der Sekretininfusion voraus. Sie stellt die Kontrollperiode des jeweiligen Experimentes dar. Proteinsekretion von 2 Kontrollexperimenten ohne Ca^{2+} - Injektionen.

		← 6 clin. U/h SECRETIN →	
PERFUSATE:			
CALCIUM CONC.	NORMAL		HIGH
PANCREATIC JUICE:	$\bar{x} \pm SD$	n = 12	$\bar{x} \pm SD$ n = 19
PROTEIN mg/ml	1.03 $\pm$ 0.37	(p < 0.2)	0.88 $\pm$ 0.42
CALCIUM μ Eq/ml	0.35 $\pm$ 0.21	(p < 0.25)	0.45 $\pm$ 0.38
CALCIUM (μ Eq) PROTEIN (mg)	0.35 $\pm$ 0.14	(p < 0.05)	0.47 $\pm$ 0.19

Tab. 3:

Vergleich der mittleren Kalzium- und Proteinkonzentrationen bei normalem (4 - 5 mval/l) und erhöhtem Perfusatkalzium (4 - 10 mval/l) unter konstanter hydrokinetischer Stimulierung (6 clin. U/h Sekretin).

Es werden die Ergebnisse von 12 Sammelperioden (a 30 min = 6 Einzelfractionen über jeweils 5 min) den Mittelwerten von 19 vergleichbaren Testperioden aus 5 Experimenten gegenübergestellt, entsprechend der graphischen Darstellung der gesamten Kalzium- und Proteinsekretion/30 min in Abb. 8.

Zeigt die basale Enzymsekretion bei ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung keine Beeinflussbarkeit durch iatrogene Hyperkalzämie bzw. kann durch extrazellulär erhöhte Kalziumkonzentrationen ein ekbolischer Reiz nicht nachgeahmt werden, so stellt sich die Frage nach einem potenzierenden Effekt des extrazellulär erhöhten Kalziums auf die submaximal stimulierte Enzym- und Kalziumsekretion.

Abb. 9 zeigt bei schrittweiser Erhöhung der Kalziumkonzentration im Perfusat von 2 - 4 auf 6 - 12 mEq/l keine signifikante Änderung der Kalzium-, Protein und Volumensekretion im Vergleich zur vorausgehenden Kontrollperiode bzw. zu Kontrollversuchen (----) über die ganze Versuchsdauer.

Eine geringgradige Steigerung der Proteinsekretion konnte nur in 2 von insgesamt 6 Experimenten in der ersten 30-Minuten-Fraktion nach Anhebung der Kalziumkonzentration im Perfusat festgestellt werden.

Einmal zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Kalziumsekretion. Ein Effekt auf die Volumensekretion war nicht zu sehen.

Die nebenstehende Tab. 4 gibt einen statistischen Vergleich der mittleren Konzentrationen von Kalzium und Protein in den Sammelperioden vor und nach Anhebung der plasmatischen Kalziumkonzentration.

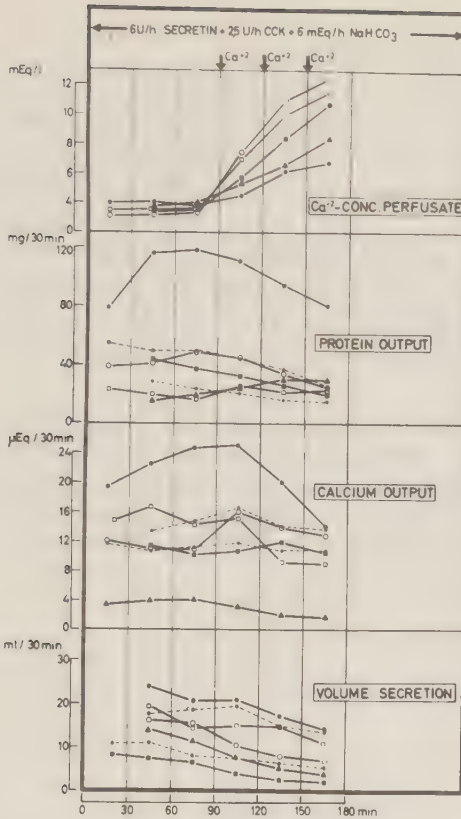


Abb. 9:

Einfluß der schrittweisen Erhöhung der Ca²⁺-Konzentration im Perfusat (Blut) auf die mit Sekretin (6 clin.U/h) und CCK/PZ (2,5 IDU/h) stimulierte Enzym- und Ca²⁺-Sekretion. (↓) 5 ml CaCl₂ (200 mM) auf 400 ml Perfusat.

Die Kontrollperiode von 0' - 90' beginnt nach 30' Vorperiode vor Stimulierung und nach Erreichen eines steady state nach Stimulierung (etwa 60' poststimulatorisch). Jeder Punkt errechnet sich durch Addition der Werte von 6 Sammelfractionen über 5 min.

..... Kontrollexperimente über die Gesamtdauer ohne Ca²⁺ - Injektionen.

PERFUSATE :		← 6 clin. U/h <u>SECRETIN</u> + 2.5 clin. U/h <u>CCK</u> →			
CALCIUM CONC.		NORMAL		HIGH	
PANCREATIC JUICE :		$\bar{x} \pm SD$ n = 26		$\bar{x} \pm SD$ n = 17	
PROTEIN mg/ml		3.67 $\pm$ 2.09	(p < 0.15)	4.42 $\pm$ 1.82	
CALCIUM μ Eq/ml		0.82 $\pm$ 0.38	(p < 0.1)	1.04 $\pm$ 0.56	
CALCIUM $\frac{(\mu\text{Eq})}{\text{PROTEIN (mg)}}$		0.29 $\pm$ 0.2	(p < 0.4)	0.28 $\pm$ 0.16	

Tab. 4:

Gegenüberstellung der Mittelwerte ($\bar{x} \pm SD$) der Protein- und Ca^{2+} - Konzentration bzw. der Ca^{2+} /Protein-Quotienten bei hydrokinetischer (6 clin.U/h Sekretin) und ekbo-
lischer (2,5 IDU/h CCK/PZ) Stimulierung vor und nach
Anhebung der plasmatischen Kalziumkonzentration.

Die Signifikanzberechnung erfolgte nach dem Student-T-Test
und den Signifikanzschranken der Geigy-Tabellen.

Sie stellt die Mittelwerte der Kalzium- und Protein - Konzentration von 26 Testperioden a 30 min unter normalen Serum-Kalzium-Werten vergleichbaren Versuchsperioden mit erhöhten Kalziumkonzentrationen statistisch gegenüber.

Dabei ergab sich bei insgesamt 6 Experimenten kein signifikanter Unterschied zwischen den jeweiligen mittleren Kalzium- und Proteinkonzentrationen.

Eine Änderung des Kalzium-Proteinquotienten nach Anhebung des Kalziumspiegels war nicht zu finden. Ebenso blieb die Saftsekretion unter den verschiedenen Versuchsbedingungen unbeeinflusst.

2. Erniedrigung der Serum-Kalziumkonzentration :

Wiederholte Einzelinjektionen von 1 - 10 ml einer $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ -Lösung (10^{-5} M), die nach stöchiometrischen Berechnungen die Kalziumkonzentration im Perfusionsmedium deutlich senken müßten, zeigen bei einer Endkonzentration von $1,77 \times 10^{-5}$ M weder einen Effekt auf die Saft- noch auf die Kalzium- und Proteinsekretion. Es kommt sogar in mehreren Versuchen zu einem geringen Anstieg der Saftdekretion.

Die Konzentrationszunahme von $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ im Perfusat bis auf $5,79 \times 10^{-3}$ M zeigt keinen Hemmeffekt auf die verschiedenen sekretorischen Parameter. Erst bei einer Endkonzentration von $9,99 \times 10^{-3}$ M, die durch aufeinanderfolgende Einzelinjektionen verschiedener EDTA-Mengen erreicht wurde, kam es in 5 Versuchen zu einem Abfall der Saft-, Kalzium- und Enzymsekretion, der durch wiederholte Ca^{2+} -Injektion nicht mehr reversibel war.

Ein ähnliches Sekretionsverhalten zeigte sich nach der Gabe von Na-Citrat. Einzelinjektionen von 1 ml einer 0,11 M Citrat-Lösung bis zu einer Perfusatendkonzentration von 16,5 mM hatten keine hemmende Wirkung auf die einzelnen Sekretionsparameter. Vielmehr zeigte sich in gleicher Weise wie bei den Versuchen mit $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ eine geringe Stimulierung der Saftsekretion.

Erst bei einer Endkonzentration von 28,07 mM setzt ein irreversibler Abfall der Enzym-, Kalzium- und Saftsekretion ein.

In den folgenden Versuchen wird wechselweise normkalzämisches autologes Blut bzw. hypokalzämisches Perfusat aus gewaschenen Erythrozyten, kalziumfreier Krebs-Henseleit-Lösung und EDTA (2 mM), in dem der Gesamt-Kalziumgehalt erniedrigt und quantitativ als EDTA-Kalzium - Chelat in gebundener Form vorliegen müßte, zur Durchströmung des Organs verwandt.

Abb. 10 zeigt im Vergleich zur vorausgehenden Kontrollperiode die Reaktion der einzelnen Sekretionsparameter während der Durchströmung mit dem hypokalzämischen Perfusat bei kontinuierlicher Stimulierung mit Sekretin und CCK/PZ.

Dabei wird deutlich, daß die Kalzium- und Enzymsekretion im kalzium-armen Milieu nicht abfällt, sondern über die Dauer von 2 Stunden konstante Meßwerte ergibt bzw. in 2 Experimenten sogar eine steigende Tendenz zeigt.

3. Effekt der Rekalzifizierung nach Perfusion mit entkalzifiziertem Perfusat.

Unterschiedliche Ergebnisse finden sich jedoch bei der anschliessenden Erhöhung der Serum-Kalzium-Konzentration durch aufeinanderfolgende CaCl_2 -Injektionen in das Blutreservoir.

Während bei der Proteinsekretion kein signifikanter Effekt zu sehen ist, hebt die Rekalzifizierung die Kalziumsekretion deutlich über das Niveau der initialen Kontrollperiode, obwohl der Perfusatspiegel in den ersten 30 min. nach Rekalzifizierung in der gleichen Größenordnung liegt.

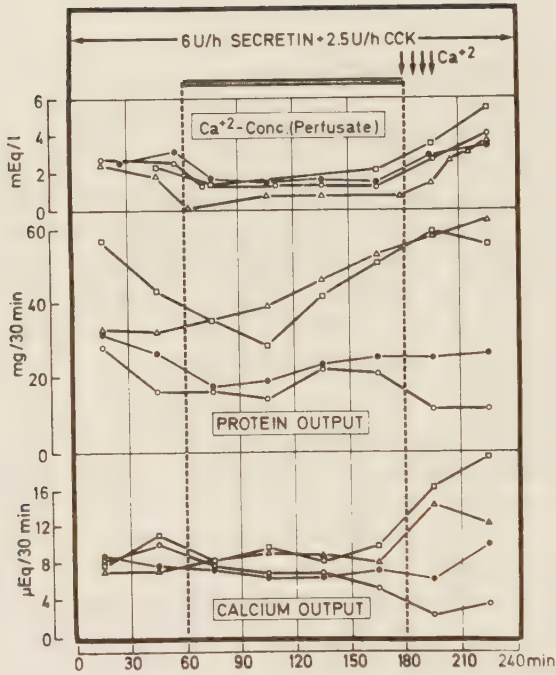


Abb. 10:

Der Einfluß von Ca^{2+} -armen Perfusat (Herstellung siehe Versuchsbedingungen) auf die hydrokinetisch (6 clin.U/h Sekretin) und ekbolisch (2,5 IDU/h CCK/PZ) stimulierte Enzym- und Ca^{2+} -Sekretion bei 4 Experimenten.

0' - 60': Kontrollperiode nach Einstellung eines "steady state" ↓↓ Rekalkifizierung durch Einzelinjektionen in das Reservoir (2,5 ml einer 200 mM CaCl_2 -Lösung auf 200 ml Perfusatvolumen).

Der Effekt von wiederholten, intraarteriellen Injektionen einer IDU/ CCK/PZ bei kontinuierlicher submaximaler Sekretinstimulierung ist aus der nächsten Abb. 11 zu ersehen.

Während der Durchströmung mit hypokalzämischem Perfusat nimmt der Mittelwert der gesamten Proteinsekretion pro 30 Minuten von 4 Experimenten im Vergleich zur vorausgehenden letzten Kontrollperiode (30 min) signifikant ab, ($p < 0,001$, Student-T-Test), die Kalziumsekretion bleibt konstant.

Die erneute Anhebung des Serum-Kalzium- Spiegels führt zu einer deutlichen Steigerung der Kalziumsekretion, die über der Höhe der Kontrollperioden liegt, während die Zunahme der Enzymsekretion nicht signifikant ist.

4. Perfusat - und Saftosmolalität bei Durchströmung mit autologem Hundeblut bzw. entkalzifiziertem Perfusionsmedium.

Abb. 12 zeigt das Verhalten der Osmolalität im Perfusat und Pankreassaft während der obengenannten Versuchsanordnung. Hieraus ist ersichtlich, daß während der gesamten Dauer des Experimentes sowohl die Perfusat- als auch die Saftosmolalität konstant bleibt. Vorallem unterscheidet sich das hypokalzämische Krebs-Henseleit-EDTA -Perfusat nicht in seiner Osmolalität vom verwandten autologen Nativblut.

Ein ähnliches Verhalten findet sich im Pankreassaft, in dem aus den Einzelkurven eine leicht ansteigende Tendenz der Osmolalität mit zunehmender Versuchsdauer sichtbar wird. Die Mittelwerte der aufeinanderfolgenden Versuchsabschnitte unterscheiden sich jedoch nicht signifikant.

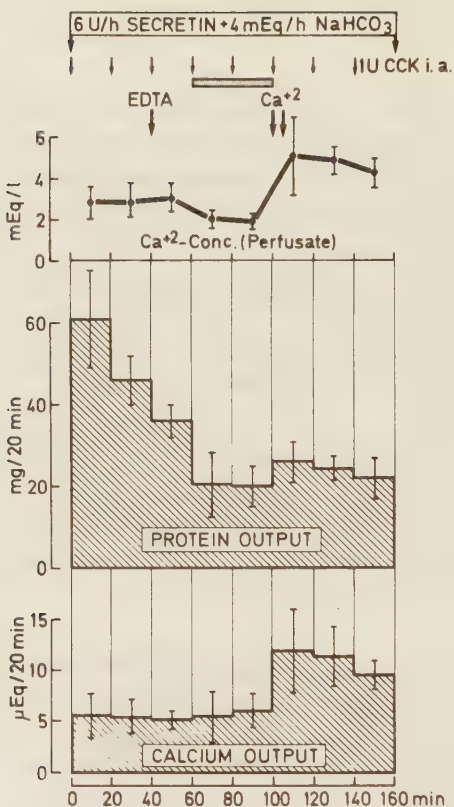


Abb . 11:

Verhalten der Protein- und Kalziumsekretion bei Durchströmung () mit kalziumarmen Perfusionsmedium (Herstellung siehe Methodik) während wiederholter ekbolischer Reizung mit 1 IDU CCK/PZ intraarteriell und kontinuierlicher hydrokinetischer Stimulierung mit 6 clin. U/h Sekretin.

($\downarrow$ EDTA) Injektion von 10 ml einer 10^{-5} molaren EDTA-Lösung.

Die anschließende Anhebung der Ca^{2+} -Konzentration im Perfusat erfolgte durch Injektion ($\downarrow\downarrow\text{Ca}^{2+}$) von je 5 ml einer 200 mM CaCl_2 -Lösung in das Reservoir.

Die oberste Zeichnung zeigt die Ca^{2+} -Konzentration (mEq/l) im Perfusionsmedium.

++signifikante Abnahme der gesamten Proteinsekretion pro 30 min.

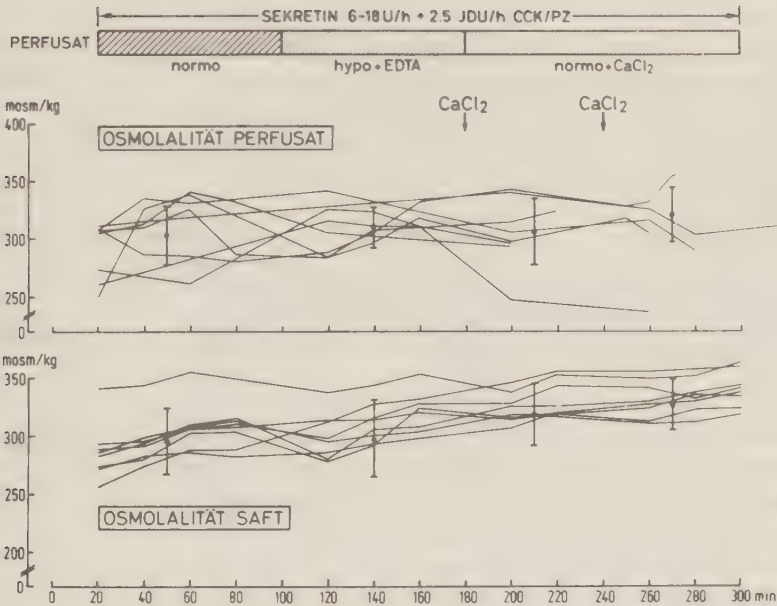
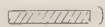
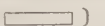


Abb. 12:

Verhalten der Osmolalität (mosmol/kg) im Perfusat (Abb. oberer Teil) und im Pankreassaft (Abb. unterer Teil) während der Durchströmung mit normokalzämischem () hypokalzämischem () bzw. rekalzifiziertem () Perfusionsmedium bei hydrokinetischer (6 clin.U/h Sekretin) und ekbolischer (2,5 IDU/h CCK/PZ) Stimulierung. ( CaCl₂) Injektion von je 5 ml einer 200 mM CaCl₂-Lösung in das Blutreservoir.

Nach Case et al.(5) ist die Kalzium - und Enzymsekretion von der Osmolalität im Perfusionsmedium abhängig. Bei unseren Messungen (Tab. und Zeichnung) wurden bei Hypo- und Hyperkalzämie keinerlei Änderungen der Osmolalität beobachtet , was also osmolalitätsbedingte Einflüsse auf die Sekretion ausschliessen läßt. Tab. 5 stellt die Osmolalitätswerte von Perfusat und Pankreassaft , die aus den Ergebnissen von 8 Experimenten ermittelt wurden, gegenüber.

5. Initiales "washing-out " von Enzymproteinen und Kalzium nach unterschiedlicher hydrokinetischer bzw. ekbolischer Stimulierung.

Tab. 6 zeigt das quantitative Verhältnis der Kalzium- und Enzymsekretion (Q) in der jeweils ersten Sammelfraktion über 5 min nach Injektion bzw. Infusion von Sekretin oder Sekretin + CCK/PZ. Im letzteren Falle wurde nur eine geringe Sekretindosis gewählt, die einen ausreichenden Saftfluß als Trägermedium für die Enzymsekretion liefert.

Es bestehen nach dieser Gegenüberstellung nur geringe Unterschiede zwischen den initialen Ca^{2+} /Prot-Quotienten nach hydrokinetischer + ekbolischer bzw. ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung, d.h.beide Reize führen bei unterschiedlicher Gesamtausscheidung von Enzymproteinen auch in der ersten 5-min-Fraktion des Pankreassaftes zu keiner Differenz im quantitativen Verhältnis von Protein zu Kalzium.

Der Quotient unterscheidet sich jedoch deutlich vom Mittelwert der Ca^{2+} -Prot-Quotienten unter kontinuierlicher hydrokinetischer bzw. hydrokinetischer + ekbolischer Stimulierung über längere Versuchsperioden. ($Q = 0,35 \pm 17$).

Q "washing out" = $1/3 \times Q$ Sn bzw. Sn + CCK/PZ per infusionem

OSMOLALITÄT (mosmol/l)

	A	B	B + Ca ²⁺	
Perfusat:	unverändertes autologes Blut	hypokalzämisches Blut	rekalzifiziertes Blut	
Perfusat:	$\bar{x} = 304 \pm 26$ n = 23	310 ± 17 n = 15	307 ± 28 n = 9	321 ± 34 n = 13
Pankreassaft:	$\bar{x} = 296 \pm 29$ n = 57	298 ± 33 n = 60	319 ± 27 n = 19	327 ± 22 n = 28

Tab.5:

Gegenüberstellung der Osmolalitätswerte von Perfusat und Pankreassaft während der Durchströmung mit normokalzämischem (1 - 2 mval/l Ca²⁺) bzw. rekalkifiziertem (4- 6 mval/l Ca²⁺) Perfusat

A = autologes Blut (Kontrollwert)

B = gewaschene Erythrozyten - Krebs -Henseleit-Lösung-
Na₂ - EDTA (2 mM) - Gemisch

B + Ca²⁺ = B + Rekalkifizierung mit 2 x 5 ml 200 mM CaCl₂.

INITIALES "washing out"

		Quotient $\frac{\text{Ca}^{2+}}{\text{Prot}}$ $\frac{\mu\text{Eq}}{\text{mg}}$	
Sekretin-Stoß	:	$0,0947 \pm 0,04$	n = 18
Sekretin-Infusion	:	$0,1105 \pm 0,05$	n = 17
Sekr. - + CCK/Pz-Inf.	:	$0,0755 \pm 0,05$	n = 15
Sekr. - Inf. + CCK/PZ-Stoß	:	$0,0892 \pm 0,03$	n = 20

Tab. 6:

Das quantitative Verhältnis von Ca^{2+} zu Protein, ausgedrückt als Quotient $\frac{\mu\text{Eq Ca}^{2+}}{\text{mg Prot.}}$ in der jeweils ersten

Sammelfraktion über 5 min

- nach ausschließlichem Sekretin-Stoß mit 1-2 clin U/h
- nach Sekretin-Infusion (6 - 18 clin.U/h)
- bei gleichzeitiger Sekretin (3-6 clin U/h) und CCK/PZ-Infusion (2,5 - 5 IDU/h) und
- bei Sekretin-Infusion (16 clin. U/h) und CCK/PZ-Injektion (5 - 10 IDU/h).

D i s k u s s i o n :

I. Die basale und stimulierte Ca^{2+} - und Proteinsekretion im Pankreassaft

1. Der erste Teil der Untersuchungen galt dem Nachweis einer enzymunabhängigen Kalziumfraktion im Pankreas, die nach Goebell et al. (12,13) und Argent et al. (1,2) neben der bereits bekannten proteinassoziierten Fraktionen bestehen sollte.

Wie aus Abb. 8 und der Tab. 4 zu entnehmen ist, bewirkt eine Erhöhung der Kalziumkonzentration bei ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung keine Änderung der basalen Protein- und Kalziumsekretion.

Es besteht also kein Diffusionsgleichgewicht zwischen intravasalem und intraluminalem (= intraduktilärem) Raum, möglicherweise via Interstitium.

Auch das Verhältnis Kalzium zu Protein im Pankreassaft, ausgedrückt als Quotient uEq Ca^{2+} pro mg Protein bleibt bei den erzielten Ca^{2+} -Konzentrationen im Perfusat (6 - 12 mEq/l) konstant. Auch bei kontinuierlicher submaximaler ekbolischer Stimulierung durch CCK/PZ in Verbindung mit einem hydrokinetischen Basisreiz durch Sekretin bleibt Q von der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration im Perfusat (im erzielten Konzentrationsbereich 6 - 12 mval/l) unbeeinflusst.

2. Außerdem unterscheidet sich Q_{Sekretin} nicht von $Q_{\text{Sekretin} + \text{CCC/PZ}}$.

3. Ferner zeigt sich ein korrespondierendes Sekretionsverhalten der Enzyme und des Kalziums bei ekbolischer und hydrokinetischer Stimulierung.
4. Zudem zeigen die Ca^{2+} - und Proteinkonzentrationen im Pankreassaft bei ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung eine negative Korrelation zur Saftsekretionsrate mit statistisch gesicherter Parallelität ihrer Regressionsgeraden.
5. Die Ca^{2+} - und Proteinsekretion pro 5-minütiger Sammelfraktion im Pankreassaft weist eine signifikante ($p < 0,0001$) Korrelation auch unter Sekretinstimulierung auf.

Aus 1 - 5 resultiert, wie von Goebell und Case (5,6,7) bisher nur unter ekbolischer Stimulierung gezeigt wurde, auch bei ausschließlicher hydrokinetischer Stimulierung trotz Elimination der initialen "washing out " Fraktionen (Ausschluß der ersten 10 - 20 min) eine deutliche Korrelation der Kalziumsekretion zur basalen Enzymsekretion. Selbst bei maximal gesteigerter Saftsekretion nimmt die Kalziumausscheidung ab, was gegen eine physiologisch ins Gewicht fallende enzymunabhängige Kalziumsekretion spricht. Kalzium zeigt wie die basale Enzymsekretion eine identische Verdünnungskurve (Abb. 4) bei zunehmender Saftsekretion.

Der Schnittpunkt der Regressionsgeraden (Abb. 5) mit der Ordinate dürfte in erster Linie auf die große Streuung der Einzelwerte zurückzuführen sein und läßt keinen zwingenden Rückschluß auf eine

eigene Kalziumfraktion bei fehlender Proteinsekretion zu. Möglicherweise fällt der methodische Fehler der Kalziumbestimmung nahe der unteren Nachweisgrenze ebenfalls für diesen Schnittpunkt auf der Ordinate ins Gewicht.

Liegen die Mittelwerte der Q_{Sekretin} und $Q_{\text{Sekretin} + \text{CCK/PZ}}$ bei kontinuierlicher Stimulierung unter Elimination der initialen Sammelfraktion während des "washing out" von Enzymproteinen in der gleichen Größenordnung ($0,35 \pm 0,17$ Tab. 2) und zeigen keine statistisch signifikante Differenz, so fällt in sämtlichen Versuchen während der ersten 5 - 10 min ein deutlich niedrigerer $\text{Ca}^{2+}/\text{Prot}$ -Quotient ($0,1 - 0,07$) im Vergleich zum weiteren Verlauf auf. (Tab. 6, Abb. 3).

Dieses Phänomen ist immer nachweisbar, die initiale Erniedrigung von Q ist hochsignifikant (Tab. 6).

Bei der Kalkulation von Q wird ein Konzentrationsmaß $\mu\text{Eq/ml Ca}^{2+}$ auf ein Gewichtsmaß mg/ml bezogen.

Bei einem initialen "washing out" von Enzymproteinen und dem darin als Chelat gebundenen Kalzium ändert sich das Proteingewicht in einer größeren Proportionalität als die Ca^{2+} -Konzentration bzw. die Molarität der Enzymproteine.

Außerdem ändert sich das Enzymmuster zum Zeitpunkt der initialen maximalen Sekretion, was sich über deren differente Molekulargewichte ebenfalls auf den Quotienten auswirkt.

Unter diesen sich initial rasch ändernden Bedingungen nach Sekretin und CCK/PZ-Injektion ist eine Relation von Enzymprotein (als Gewichtsmaß) zur Ca^{2+} -Konzentration wenig aufschlußreich. Sie stellt nur einen Annäherungswert der quantitativen Relation von Kalzium zu Protein bei einem steady state beider Sekretionsparameter, wie in Tab. 2 gegenübergestellt, dar.

Möglicherweise werden bei dem initialen "washing-out" von Enzymen oder bei maximal gesteigerter Enzymsekretion weniger Ca^{2+} -Ionen pro Molekül Enzymprotein gebunden und führen zu der beschriebenen Abnahme der Ca^{2+} /Prot-Quotienten.

II. Der Einfluß extrazellulärer Änderungen der Kalziumkonzentrationen auf die basale und stimulierte Saft-, Enzym- und Kalziumsekretion

Eine Zunahme der submaximal stimulierten Enzym- und Kalziumsekretion durch experimentell induzierte Hyperkalzämien, wie sie von Goebell et al.(13) und Hotz et al.(16) in vivo beim Menschen und Hund beschrieben wurden, konnten unter entsprechenden Bedingungen am isoliert perfundierten Pankreas nicht bestätigt werden.

Abb. 9 zeigt, daß eine 2 - 3-fache Erhöhung der physiologischen Ca^{2+} -Konzentration keinen Einfluß auf die mit Sekretin oder CCK/PZ stimulierte Enzym- und Kalziumsekretion des Pankreas ausüben.

Der ekbole Effekt einer Kalziumkonzentrationssteigerung, wie er durch die oben erwähnten Autoren an in-vivo Modellen nachgewiesen wurde, scheint durch Kalzium-induzierte sekundäre Mechanismen hervorgerufen zu werden, die am vom Duodenum abpräparierten und isoliert durchströmten Organ nicht mehr auslösbar sind oder wirksam werden. In erster Linie ist unter in-vivo Bedingungen an Ca^{2+} -induzierte cholinerge, hormonale und evtl. vaskuläre Mechanismen zu denken, die die sekretorische Leistung des stimulierten Pankreas beeinflussen.

Die vorliegenden Versuche am isoliert perfundierten Hundepankreas schliessen somit einen direkten Einfluß hoher physiologischer Kalziumkonzentrationen auf die duktiläre oder azinäre Pankreaszelle selbst im Sinne einer Imitierung eines ekbolen Reizes bzw. einer Steigerung der stimulierten hydrokinetischen oder ekbolischen Zellfunktion aus.

Außerdem konnte auch in unserer Versuchsreihe ebenso wie bei Case und Argent (5, 6, 1, 2), im Gegensatz zu Hotz et al. (16) festgestellt werden, daß die Hypokalzämie keinen Einfluß auf die stimulierte Enzym- und Kalziumsekretion ausübt.

Argent (2) sah auch noch bei wesentlich niedrigeren Konzentrationen im Perfusat (0,1 mM) keine hemmende Wirkung auf die Enzymsekretion.

Die von uns im Atomabsorptionsspektrometer gemessenen Ca^{2+} -Konzentrationen für kalzium-verarmtes Perfusat entsprechen wohl im wesentlichen dem vollständig vom EDTA-Excess gebundenen EDTA-Ca^{2+} -Chelat, das bei der Koppelung von Reiz und Sekretion bzw. bei den intracellulären sekretorischen Mechanismen und der Exocytose der Enzymgranula unwirksam sein dürfte.

Außerdem führen steigende Konzentrationen von $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ im Perfusat bis zu einer Konzentration von $5,79 \times 10^{-3} \text{ M}$ zu keiner Beeinträchtigung der Enzym-, Saft- und Kalziumsekretion. Diese Tatsache spricht gegen die postulierte empfindliche Abhängigkeit der Enzym- und Ca^{2+} - Sekretion von extracellulären Kalzium und für die entscheidende Abhängigkeit der Enzymsekretion vom intrazellulären Kalziumpool.

Für die Interaktion der Stimuli mit den Rezeptoren der Plasmamembran scheint das an die Lipoproteidmembran als Chelat gebundene Ca^{2+} zu genügen bzw. wird von EDTA in der genannten Konzentration nicht entfernt.

Erst EDTA-Konzentrationen von $9,99 \times 10^{-3} \text{ M}$ bzw. höchste Citratkonzentrationen von $28,07 \times 10^{-3} \text{ M}$ führen zu einer irreversiblen Hemmung der Enzym-, Saft- und Kalziumsekretion, die durch den Zusatz hoher extrazellulärer Ca^{2+} -Konzentrationen uneinflusst bleibt. Hierbei dürfte neben Veränderungen der Plasmamembran der Zelle, interzelluläre Auflösung der Ca^{2+} -Brückenbindungen und mitochondriale Strukturänderungen eine wesentliche Rolle spielen.

Aus den Versuchsreihen am isolierten Organ kann die kalzifizierende Pankreatitis beim primären Hyperparathyreoidismus

- a. weder auf eine gesteigerte Stimulation der Enzym-, Saft - und Kalziumsekretion noch
- b. auf eine isolierte proteinunabhängige Kalziumsekretion zurückgeführt werden.

Möglicherweise spielen in vivo komplexe Wirkungen über endogene Hormonfreisetzung, über cholinerge Enzymstimulierung und über eine direkte Einwirkung des Parathormons auf das Organ für die Pathogenese der Pankreatitis eine Rolle.

Z u s a m m e n f a s s u n g :

1. Die Enzym- und Kalziumsekretion ist nicht nur unter ekbolischer, sondern auch bei ausschließlich hydrokinetischen Stimulationsbedingungen korreliert.
2. Die quantitative Relation von Kalzium und Enzymprotein ändert sich nur unter hydrokinetischer und ekbolischer Stimulierung.
3. Es ergeben sich keine Hinweise auf eine enzymunabhängige Kalziumfraktion im Pankreassaft.
4. Die Erhöhung des extrazellulären Kalziums auf pathophysiologisch relevante Konzentrationen (Hyperkalzämiesyndrom) führt zu keiner Änderung der Saft-, Enzym- und Kalziumsekretion.
5. Hypokalzämie und hohe plasmatische Konzentrationen von EDTA führen zu keiner Entkoppelung von Reiz und Sekretion.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. Argent, B.E.; Case, R.M.; Fraser, M.P.; and Scratcherd, T.:
The effects of calcium on volume and amylase secretion
from the perfused cat pancreas.
J.Physiol.Lon.224: 29 - 30 (1972)
2. Argent, B.E.; Case, R.M., and Scratcherd, T.:
The amylase secretion by the perfused cat pancreas
in relation to the secretion of Calcium and other
electrolytes and as influenced by the external ionic
inviroment.
J.Physiol.Lon. 230: 575 - 593 (1973)
3. Astrup, P.:
Eine einfache elektromotorische Technik zur Bestimmung
des Kohlendioxyddruckes im Blut und Plasma-Gesamtgehaltes
an Kohlendioxyd im Plasma und Bikarbonat-Gehaltes im ab-
getrennten Plasma bei festem Kohlendioxydgehalt (40 mm Hg)
Scand.J.Clin, u. Lab. Investigation 8, 33 (1956)
4. Case, R.M., and Clausen, T.:
Stimulus secretion coupling in exocrine pancreas.II.
The role of calcium ions; in Taysen Alfred Benzen
Publication I; gastrointestinal hormones and other
subjekts, pp 67-71
(Munsgaard, Copenhagen, 1971)
5. Case, R.M., and Clausen, T.:
Calcium ions and the release of enzymes from rat pancreas
in response to gastrointestinal hormones.
Acta.endocrin, Kbh, Suppl. 155 (1971)

6. Case, R.M., and Clausen, T.:

The relationship between calcium exchange and enzyme secretion in isolated rat pancreas.

J. Physiol.Lond. 235: 75 - 102 (1973)

7. Case, R.M.

Calcium and Gastrointestinal Secretion.

Digestion 8: 269 - 288 (1973)

8. Cope, O.: Culcer, P.J.; Mixter, C.L. and Nardi, E.L.:

Pancreatitis , a diagnostic due to Hyperparathyreoidism.

Ann.Surg. 145: 857 (1957)

9. Creutzfeldt, W.:

Koinzidenz von Pankreatitis und Hyperparathyreoidismus.

Dtsch.med.Wschr. 88: 1565 (1963)

10. Douglas, W.W.:

Stimulus-secretion coupling: the concept and clues from cromaffin and other cells.

Brit.J.Pharmacol.34: 451-474 (1968)

11. Douglas, W.W., Poisener, A.M.:

Influence of calcium on the secretory response of the submaxillary gland to acetylcholine or noradrenalin.

J.Physiol.(Lond.) 165,528 (1963)

12. Goebell, H.; Baltzer G.; Schlott, K.A., and Bode Ch:

Parallel secretion of Calcium and enzymes by the human pancreas.

Digestion 8: 336 - 346 (1973)

13. Goebell, H.; Steffen, Ch.; Baltzer, G.; Schlott, K.A. and Bode, Ch.:
Stimulation of enzyme secretion in the pancreas by acute Hypercalcaemia.
Germ.Med. month. Vol.II: 16 - 18 (1972)
14. Hermon-Taylor, J.:
A technique for perfusion of the isolated canine pancreas. Responses to secretin and gastrin.
Gastroenterology 55: 488 - 501 (1971)
15. Hokin, L.E.:
Effects of calcium omission on acetylcholin-stimulated amylase secretion and phospholipid synthesis in pigeon pancreas slices.
Biochim. biophys. Acta 115: 219 - 221 (1966)
16. Hotz, J.; Minne, H., and Ziegler, R.:
The influence of acute hyper- and hypocalcemia and of calcitonin on exocrine pancreatic function in man.
Res, exp. Med. 160: 152-165 (1973).
17. Hsiu, J.; Fischer, E.H. and Stein, E.A.:
Alpha-Amylases as Calcium-Metalloenzymes. II. Calcium and the Catalytic activity.
Biochem. 3: 61-66 (1964)
18. Malaisse, W.; Malaisse-Lagae, F.:
A possible Role for Calcium in the stimulus secretion coupling for glucose induced insulin secretion.
Acta diabet. lat. 7 (Suppl. 1) 264 (1970)
19. Mixter, C.G.; Keques, W.M. and Cope, O.:
Further experience with pancreatitis as a diagnostic clue to hyperparathyroidism.
New. Engl. J. Med. 266: 265 (1962)

20. Nielsen, S.P., and Petersen, O.H.:
Excretion of magnesium, calcium and anorganic phosphate
by the cat submandibular gland.
Pflugers Arch.ges. Physiol. 318: 63-77 (1970)
21. Nielsen, S.P., and Petersen, O.H.:
Transport of Calcium in the perfused submandibular
gland of the cat.
J.Physiol.London 233: 685-697 (1972)
22. Rasmussen, H.:
Cell communication, Calcium ion and cyclic Adenosine
Monophosphate.
Science 170: 404 - 412 (1970)
23. Robberecht, P., and Christoph, J.:
Secretion of hydrolases by perfused fragments of rat
pancreas: effect of calcium.
Am. J. of Physiol. 220: 911 - 917 (1971)
24. Rubin, R.P.:
The role of calcium in the release of neurotransmitter
substances and hormones.
Pharmacol. Rev. 22: 389 - 428 (1970)
25. Sachs, L.:
Statistische Auswertungsmethode
Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1971
26. Schmidt, H.; Hesch, R.D.; Hufner, M.; Pascher, K., and
Creutzfeldt, M.:
Hemmung der exokrinen Pankreasfunktion des Menschen durch
Calcitonin.
Dt.med. Wschr. 96: 1773-1775 (1971)

27. Schmidt, N.; Creutzfeldt, W.; Wittich, H.A. and Röttger, P.:
Untersuchungen der exokrinen Pankreasfunktion bei primärem
und sekundärem Hyperparathyreoidismus.
8. Internat. Kongress f. Gastroenterologie Prag (1968)
28. Schulz, J. and Mannigal, H.:
Dependence of pancreatic enzyme secretion on extracellular Ca^{2+}
and its modification by cyclic nucleotides and thyreocalcitonin.
Acta gastroent. belg. 37: 402-412 (1974)
29. Schulz, J.:
The role of extracellular Ca^{2+} and cyclic nucleotides in the
mechanism of enzyme secretion from the cat pancreas.
Pflügers Arch. in press
30. Scribner, B. H., and Caillouette, J.C.:
Improved method for the bedside determination of
bicarbonate in Serum.
J. amer. med. Ass. 155: 644-648 (1954)
31. Sigaard Anderson, O.; Jörgensen, K; und Astrup, P.:
A mikromethod for dertermination of ph. carbondioxyde
tension, base excess and standart bicarbonate in caillary blood.
Scand. J. Clin. u. Lab. Investigation
32. Teufel, H.; Stock, P.; Rohrmoser, H. and Forell, M.M.:
The influence of extracellular calcium upon the hydrokinetic
and ecobolic stimulated juice-, enzyme- and calcium secretion
of the isolated perfused canine pancreas.
V. Congreso Mundial de Gastroenterologia, Mexico, Abstract:
571 (1974)
33. Turchi, J.J.; Flandreau, R.H.; Forte, A.L.; French, G.N., and
Ludwig, G.D.:
Hyperparathyreoidism and Pancreatitis
J. Amer. med. Ass. 180: 799 (1962)

34. Weber, H.
Mikromethode zur Bestimmung der Pankreaslipase im Serum
Dtsch. med. Wschr. 90: 1170
35. Wiesmeth, A.:
Die hydrokinetische Funktion des isoliert perfundierten Hundepankreas
Dissertation München 1973
36. Zimmermann, M.J.; Dreiling, D.A.; Rosenberg, I.R.; and Janowitz, H.D.
Secretion of Calcium by the canine pancreas
Gastroenterology 52: 865 - 870 (1967)
37. Zimmermann, M.J.; Moore, E.W.; Dreiling, D.A.; and Janowitz, H.D.:
Pancreatic juice ionized and total calcium in dogs in response to secretin, pancreozymin and calcium infusions.
J.clin. Invest. 50, 103 a.

Lebenslauf

Am 5. März 1950 wurde ich als zweites Kind des Polizeibeamten Ottmar Stock und seiner Ehefrau Hilde, geb. Eschlwöck in Nürnberg geboren.

Von September 1956 bis Dezember 1958 besuchte ich die Volksschule in Emmering/Fürstenfeldbruck, anschliessend bis Juli 1960 die Gebeleschule in München-Bogenhausen.

Am 19. Dezember 1959 verstarb mein Vater.

Im September 1960 trat ich in München in das humanistische Wilhelmsgymnasium ein und legte dort 1969 mein Abitur ab.

Im Wintersemester 1969/70 begann ich an der Ludwigs-Maximilians-Universität in München das Studium der Human-Medizin und beendete es im Juli 1975 mit der ärztlichen Prüfung. Während meiner Medizinalassistentenzeit arbeitete ich von September 1975 bis Februar 1976 an der Chirurgischen Universitätsklinik München und bin nun im 2. Halbjahr von März bis August 1976 an der II. Med. Klinik der Universität München tätig.

